

血管新生抑制因子Vasohibin-1はSOD2、SIRT1の発現を誘導し血管内皮細胞のストレス耐性を高める

著者	渡邊 龍秋
号	81
学位授与機関	Tohoku University
学位授与番号	医博第3042号
URL	http://hdl.handle.net/10097/62350

氏 名	わたなべ たつあき 渡邊 龍秋
学 位 の 種 類	博士（医学）
学位授与年月日	平成 24 年 3 月 27 日
学位授与の条件	学位規則第 4 条第 1 項
研 究 科 専 攻	東北大学大学院医学系研究科（博士課程）医科学専攻
学位論文題目	血管新生抑制因子 Vasohibin-1 は SOD2, SIRT1 の発現を誘導し 血管内皮細胞のストレス耐性を高める
論文審査委員	主査 教授 近藤 丘 教授 佐藤 靖史 教授 片桐 秀樹 教授 黒澤 一

論文内容要旨

背景:Vasohibin-1(VASH1)はvascular endothelial growth factor (VEGF)により誘導される血管新生抑制因子として発見された。一方、VASH1は、VEGF等の血管新生促進因子による誘導によらず血管内皮細胞 (endothelial cells; ECs)では定常的に発現しており、このことは血管新生抑制以外にもECsに対する作用を有していることを伺わせるものである。そこで本研究ではVASH1に血管新生抑制作用以外のECsに対する作用を認めるか否かを検討した。

方法:ヒト臍帯血静脈内皮細胞(Human umbilical vein endothelial cells: HUVEC)を主に用いて *in vitro*でのECsに対するVASH1の機能を解析した。siRNA、アデノウイルスベクターを用いてHUVECのVASH1をノックダウンまたは過剰発現させ、細胞の形態の変化やH₂O₂やserum starvationなどのストレス下での細胞老化、細胞死を検討した。

*in vivo*ではVASH1(+/-)マウスとアデノウイルスベクターを用いて、VASH1をノックダウンした場合と過剰発現した場合での、パラコートによる酸化ストレスへ耐性と肺障害に対するVASH1の機能を検討した。

結果: VASH1をノックダウンするとECsの細胞老化がみられ、H₂O₂やstarvationによるストレス下では細胞死が増加した。ECsでVASH1を過剰発現させると、H₂O₂やstarvationによる細胞老化と細胞死に対する抵抗性を示した。

VASH1には全長を示すVASH1AとVASH1Bの2つのスプライシングバリエーションがあり、ECsの保護作用はVASH1Aに特徴的に認められる作用であることがわかった。VASH1AがECsを保護しているメカニズムを追求した結果、VASH1AによりSOD2とSIRT1の発現が誘導され、ストレスへの耐性が得られたと考えられた。

活性酸素を発生させ肺を中心に臓器障害を来す薬剤であるパラコートをマウスへ投与し実験を行った。VASH1 (+/-)マウスへパラコートを投与したところ野生型マウスに比べ死亡率が高値であった。ヒトVASH1を搭載したアデノウイルスベクターを経気道的に導入したところ肺のSOD2とSIRT1の発現が誘導され、マウスの死亡率は低値となり、肺障害も軽減していた。

結論: VASH1 には ECs をストレスから保護する重要な因子であり、*in vivo* でも酸化ストレスに対して抵抗性を持たせる働きを持つと考えられた。この効果は VASH1A が ECs で SOD2 と SIRT1 を誘導することが一因と考えられた。

審 査 結 果 の 要 旨

博士論文題名...血管新生抑制因子Vasohibin-1はSOD2, SIRT1の発現を誘導し血管内皮細胞のストレス耐性を高める.....

所属専攻・分野名医科学 専攻・呼吸器外科学分野.....

学籍番号 氏名渡邊龍秋.....

本研究は血管新生抑制因子vasohibin-1(VASH1)の血管内皮に対し細胞老化やストレス耐性に関する新たな作用を持つことを見出し、分子機序の解明を試みたものである。

VASH1はvascular endothelial growth factor (VEGF)により誘導される血管新生抑制因子として発見された。VASH1はVEGF等の血管新生促進因子による誘導によらずとも血管内皮細胞 (endothelial cells; ECs) では定常的に発現が認められる。筆者はこの点に着目し、血管新生抑制作用の他にもVASH1がECsに対し作用している可能性を検討した。

第一に筆者はヒト臍帯血静脈内皮細胞とsiRNAやアデノウイルスベクターを用いた分子生物学的手法により、VASH1がECsの細胞老化や細胞死に関わり、ストレスに対して抵抗性を招来することを発見した。VASH1には全長を示すVASH1AとスプライシングバリエーションのVASH1Bがあるが、このうちVASH1Aがストレスに対して保護的な作用を招来し、さらにその機序として、VASH1AはECsでSOD2とストレス耐性遺伝子を誘導するSIRT1の発現を誘導し、細胞老化やH₂O₂やstarvationによるストレスによる細胞死を抑制していることを解明した。第二に筆者はVASH1Aによる酸化ストレスへの耐性への影響をin vivoで検討している。VASH1 (+/-)マウスへ酸化障害を与える薬剤であるパラコートを投与すると野生型マウスに比べ死亡率が高値であり、ヒトVASH1Aを搭載したアデノウイルスベクターを経気道的に導入したVASH1 (+/-)マウス肺ではSOD2とSIRT1の発現が誘導され、肺障害は軽度となりマウスの死亡率は低値であった。一方でVASH1Aを正常ヒト気管支上皮細胞に遺伝子導入した場合には酸化ストレスに対して保護効果は誘導しないことから、VASH1Aの効果はECsにおいて特徴的である可能性が示唆された。

本研究はVASH1の機能としてECsの恒常性の維持という新たな作用を見出したものであり、独創性・新規性の点からも学位の基準を満たすのである。よって、本論文は博士（医学）の学位論文として合格と認める。